

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

— * —
ANNÉE 1929
—

56

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1929

PAR

Monsieur VEDEL (Roger), né à Uzès (Gard), le 6 Juin 1887

Contribution à l'Etude

DU

Bacille de la Nécrose

JURY { *Président* : M. LEMIERRE, professeur à la Faculté de Médecine.
 { *Assesseurs* { M. VALLÉE, professeur honoraire à l'Ecole N. V. d'Alfort.
 { M. ROBIN, professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.



ISSOUDUN

H. GAIGNAULT, IMPRIMEUR-ÉDITEUR

—
1929

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Directeurs honoraires : MM. P.-J. CADIOT et H. VALLÉE.

Directeur : M. E. NICOLAS.

Professeurs honoraires : MM. G. BARRIER, Inspecteur général honoraire des Ecoles Vétérinaires, P.-J. CADIOT, A. RAILLIET, H. VALLÉE.

PROFESSEURS ET CHARGÉS DE COURS

	MM.
Anatomie descriptive des animaux domestiques	BRESSOU.
Physiologie, thérapeutique générale	MAIGNON.
Physique et Chimie médicales, toxicologie, pharmacie..	NICOLAS.
Parasitologie et maladies parasitaires, clinique ; Zoologie.	HENRY.
Pathologie médicale des équidés et des carnassiers, clinique ; sémilogie et propédeutique, jurisprudence..	ROBIN.
Pathologie chirurgicale des équidés et des carnassiers, clinique ; anatomie chirurgicale, médecine opératoire et ferrure	COQUOT.
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire, clinique ; médecine opératoire, obstétrique. ..	MOUSSU.
Pathologie générale et microbiologie, maladies microbiennes et police sanitaire, clinique	PANISSET.
Histologie et embryologie, anatomie pathologique ; autopsies	PETIT.
Zootecnie et économie rurale	DECHAMBRE.
Agronomie, botanique et hygiène ; matière médicale ..	{ DECHAMBRE et HENRY.
Industrie et contrôle des produits d'origine animale ..	VERGE.

AGRÉGÉS

MM. LESBOUYRIES, VERGE.

CHEFS DE TRAVAUX

MM. DELMER, LESBOUYRIES, MONVOISIN, MOUSSU (R.), VERGE.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.

R. VEDEL

Vétérinaire sanitaire du département de la Seine

Contribution à l'Etude du Bacille DE LA NÉCROSE

(Etude expérimentale du Bacille de la Nécrose
des abcès du foie du Bœuf)



A LA MÉMOIRE

DE MON PÈRE
VÉTÉRINAIRE PRATICIEN

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MES MAITRES
DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE
DE LYON
A MES CHEFS
A MES COLLÈGUES
DU
SERVICE VÉTÉRINAIRE
DU
DÉPARTEMENT DE LA SEINE

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE DOCTEUR LEMIERRE

Professeur à la Faculté de Médecine

A MES JUGES

A MONSIEUR LE PROFESSEUR VALLÉE

qui, bien qu'il ait quitté l'enseignement, m'a fait le grand honneur d'accepter d'être mon juge, je suis heureux d'exprimer ici ma très profonde gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ROBIN

A MONSIEUR LE DOCTEUR ROUX
Directeur de l'Institut Pasteur

A MONSIEUR LE DOCTEUR M. NICOLLE

Professeur à l'Institut Pasteur

Très respectueux hommage.

A MONSIEUR LE DOCTEUR-VÉTÉRINAIRE CÉSARI

Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur

qui m'inspira l'idée de ce travail et fut pour moi un guide constant et bienveillant, j'exprime ma bien vive reconnaissance et mon profond dévouement.

Contribution à l'étude du bacille de la Nécrose

INTRODUCTION

Ce travail a été entrepris sur les conseils de M. Césari dont on connaît les remarquables travaux sur le bacille de la Nécrose (I) isolé des foyers métastatiques du poumon ou du foie chez des chevaux atteints de Javart cartilagineux.

Il avait attiré notre attention sur l'intérêt qu'il pouvait y avoir à vérifier si les bacilles isolés des diverses lésions du bœuf, dues au bacille de la nécrose, étaient de tous points comparables soit entre eux, soit avec le bacille d'origine équine ou si, au contraire, la morphologie, les caractères biochimiques, la virulence et la toxicité vis-à-vis des animaux de laboratoire, les caractères antigènes enfin, permettaient d'en faire une ou plusieurs races distinctes.

C'est ce que nous nous étions proposé en entreprenant cette étude.

Mais, malgré nos fréquentes visites aux Abattoirs de la Villette et de Vaugirard, malgré le zèle déployé par nos collègues attachés à ces établissements, les seules

lésions que nous ayions pu nous procurer ont été des abcès du foie.

Notre étude n'a donc pu porter que sur le bacille de la nécrose isolé des abcès du foie du bœuf, et les conclusions auxquelles nous sommes parvenu ne valent que pour les bacilles isolés de ces lésions : elles ne sauraient être étendues à tous les bacilles susceptibles d'être rencontrés chez le bœuf.

* * *

Par raison de simplicité, cependant, nous appellerons très souvent le bacille que nous avons étudié « bacille bovin » par opposition au bacille équin étudié par M. Césari.

Enfin, nous devons signaler qu'il ne nous a pas été possible de nous procurer de souche équine. Nous n'avons donc pu étudier le bacille équin parallèlement au bacille bovin : et surtout nous n'avons pu nous rendre compte si l'inoculation de liquide clair des cultures de notre bacille immunisait le cobaye vis-à-vis de la toxine secrétée par le bacille équin. Ce qui pourtant eût été d'un intérêt capital.

Fort heureusement, M. Césari a pu mettre à notre disposition des bacilles équins traités par l'alcool-éther et nous avons pu ainsi préparer des antisérums avec le bacille bovin et le bacille équin.

HISTORIQUE

En 1891, Bang (II) démontra de manière irréfutable que le même bacille que Lœffler avait signalé en 1884 dans la diphtérie des veaux, pouvait être isolé, cultivé dans les milieux artificiels en usage alors dans les laboratoires au départ d'un très grand nombre de lésions, de la peau, du foie, du poumon et même du cœur de certaines espèces animales, notamment du Bœuf et du Cheval.

Ces lésions étant le plus souvent caractérisées par de la nécrose des téguments et du parenchyme des organes, Bang donna le nom de bacille de la nécrose à ce bacille dont il venait de démontrer la très grande importance en médecine vétérinaire.

Des lésions, ou affections énumérées par Bang, nous n'indiquerons ici que deux :

1° L'hépatite nodulaire nécrosante du foie des Bovidés sur laquelle Mac Fadyean (III) venait presque en même temps que Bang d'attirer l'attention.

2° Les abcès du foie du Bœuf qui vont faire l'objet de cette étude.

C'est, en effet, dans le mémoire de Bang que fut signalée pour la première fois l'existence du bacille de la nécrose dans certains abcès du foie du bœuf : ce fait a été confirmé depuis par de très nombreux auteurs.

LES ABCÈS DU FOIE CHEZ LE BŒUF

Nos confrères des Abattoirs de la Villette et de Vaugirard nous ont procuré 22 foies de bœuf atteints d'abcès.

Dans 20 de ces foies le pus contenait le bacille de la nécrose.

13 fois en culture pure.

7 fois associé à des staphylocoques, streptocoques et bacilles Gram positifs que nous n'avons pas déterminés.

Dans deux cas seulement le pus ne contenait que des staphylocoques.

*
* *

Une excellente description a été donnée par Nocard et Leclainche (IV) du type classique des abcès dus au bacille de la nécrose.

« Les abcès forment dans le foie des tumeurs blanc jaunâtre du diamètre d'une noisette ou d'une noix, peu saillantes, résistantes au toucher. On trouve sur la coupe une coque épaisse de tissu lardacé, ferme à la périphérie, ramolli et bourgeonneux au centre. La cavité toujours étroite renferme un pus visqueux homogène

blanc verdâtre ». Le pus dégage toujours une odeur fétide.

On rencontre aussi le bacille de la nécrose en « culture pure » dans d'énormes abcès de la grosseur du poing ou même d'une tête d'enfant.

La coque est toujours très épaisse, la cavité très vaste, le pus présente les caractères indiqués ci-dessus.

Enfin, une seule fois dans des lésions, classiques d'apparence, nous avons rencontré au lieu de pus, un séquestre se coupant très nettement sous le scalpel et de coloration rose saumon.

Le séquestre n'était pas adhérent à la coque, mais en était séparé par une mince auréole de pus jaune verdâtre. Le bacille était contenu et dans le pus et dans la partie nécrosée.

Bang avait rencontré des séquestres et parfois aussi des fragments de séquestre mêlés à du pus dans des foyers encapsulés du foie. Il en inférait que les abcès n'étaient que des lésions d'hépatite nécrosante arrivées à un stade plus avancé.

Les foyers de nécrose formés dans le foie seraient susceptibles de s'étendre, de causer chez l'animal des troubles graves, d'entraîner même la mort; ce qui arriverait d'ailleurs rarement (Bang) (1).

Très souvent, par contre, « le processus nécrosant » s'arrêterait, l'encapsulation des lésions interviendrait, suivi de fonte purulente du séquestre.

(1) Berndt, cependant, cité par Friedberge et Frohner, a observé quinze cas mortels d'hépatite nécrosante.

Aussi l'abcès serait-il toujours bien toléré. Ce ne serait jamais qu'une trouvaille d'autopsie.

La présence d'un séquestre à l'intérieur d'une coque épaisse, analogue à celle qui est toujours rencontrée dans l'abcès classique du foie ; la présence surtout de fragments de séquestre dans le pus de certains abcès, semble bien démontrer, en effet, que l'abcès du foie peut, dans certains cas, dériver d'un foyer de nécrose.

Mais il est bien difficile d'affirmer qu'il n'est pas d'abcès qui ne procède d'un foyer de nécrose.

Il semblerait, en effet, logique d'admettre que certaines souches de bacilles de la nécrose capables de sécréter une toxine nécosante très active, pussent créer dans le foie des foyers de nécrose qui, plus tard, se transformeraient en abcès, alors que des souches moins toxiques produiraient d'emblée des « abcès ».

Nous devons, cependant, reconnaître que la souche que nous avons isolée du séquestre signalé plus haut, ne différerait en rien de nos autres souches et que sa toxicité n'était pas plus marquée (1).

Quant à l'innocuité des abcès pour l'animal, elle semble bien être confirmée par l'examen des animaux qui en sont atteints : le plus souvent ils sont en excellent état.

(1) D'après Schumann (V), les seules lésions dues au bacille de la nécrose rencontrées dans le foie du veau seraient du type séquestre encapsulé. Ce qui semblerait bien confirmer l'hypothèse de Bang.

Mais nous devons cependant signaler que nous avons rencontré précisément chez le veau un abcès du type classique contenant le bacille de la nécrose en culture pure.

Cependant Nocard (1) a vu un taureau de concours mourir en quelques jours qui, à l'autopsie, fut trouvé porteur d'un foie énorme (63 kg) renfermant de nombreux abcès dans lesquels le bacille de la nécrose était en culture pure.

D'autre part, ces lésions sont, nous l'avons vu, susceptibles d'atteindre un grand développement, et il nous paraît invraisemblable que dans ce cas elles n'occasionnent pas de troubles chez l'animal.

Il serait intéressant à ce sujet de voir si les abcès du foie ne sont pas souvent rencontrés chez des animaux abattus comme atteints de troubles digestifs chroniques.

Pour tous les auteurs ces lésions sont d'origine secondaire, métastatique.

Elles seraient consécutives à des lésions nécrotiques (diphthériques) de l'intestin qui, le plus souvent, passent inaperçues — parfois aussi à des lésions de la peau et même du pénis (Bang).

Chez le veau, il faudrait incriminer l'omphalo-phlébite, ce qui est nié par Schumann (V) qui est d'avis que toutes les lésions dues au bacille de la nécrose rencontrées dans le foie du veau, procèdent de lésions intestinales.

(1) Un cas semblable est signalé chez une vache par Vermeulen. Nécrose due au bacillus nécrophorus. (Voir Analyse in *Revue Générale de Médecine Vétérinaire*, t. I, 1903, page 30.)

Le Bacille de la Nécrose
des Abscès
du Foie du Bœuf

MORPHOLOGIE

Dans les abcès, le bacille de la nécrose se présente toujours sous l'aspect d'un très fin bacille ayant moins de $0\text{ }\mu$, 25 de large. La longueur ne varie guère que de $1\text{ }\mu$ à $3\text{ }\mu$. On trouve bien quelques formes longues, mais elles sont rares.

Nous n'avons jamais rencontré dans les lésions même de formes très longues, filamenteuses, enchevêtrées, signalées par quelques auteurs.

Le bacille est immobile, ne forme pas de spore.

Il se colore très bien par les couleurs d'aniline, mais ne prend pas le Gram. Si on le colore avec le Ziehl dilué, ou mieux avec la thionine phéniquée, ou le Giemsa, on met très facilement en évidence, les granulations métachromatiques séparées par des espaces clairs, et renfermées dans une très fine gaine, qu'ont signalées un grand nombre d'auteurs.

Cultures. — Dans les milieux glucosés certaines souches donnent des formes très longues filamenteuses, enchevêtrées : d'autres donnent surtout des formes beaucoup plus courtes (de $1\text{ }\mu$, 5 à $8\text{ }\mu$, 5) avec quelques rares bacilles plus longs. L'épaisseur est de $0\text{ }\mu$, 3.

Les granulations métachromatiques sont très faciles à mettre en évidence.

Dans les cultures anciennes le bacille est toujours plus

court que dans les cultures jeunes. (Le fait est signalé par plusieurs auteurs).

Dans les milieux non glucosés. — La plupart des bacilles ont de $0\ \mu, 5$ à $2\ \mu, 5$ de long sur $0\ \mu, 25$ à $0\ \mu, 3$ de large.

Dans les vieilles cultures les formes les plus courtes $0\ \mu, 5$ de long sur $0\ \mu, 3$ de large sont dominantes : elles ont l'apparence de vraies granulations.

En gélose veillon. — Les formes sont toujours longues, enchevêtrées à granulations métachromatiques.

Formes atypiques. — Dans les milieux glucosés on voit assez souvent des formes renflées en massue, ou en boule.

Enfin, un de nos échantillons (G) nous donnait parfois, et d'une manière fort capricieuse, en milieux glucosés de véritables corpuscules réfringents, se colorant uniformément par les couleurs d'aniline, et dont la forme rappelait fort bien celle de certaines levures (ces corpuscules ne prenaient pas le Gram).

Nous ne parlerions pas de ces formes dont nous n'avons pu déterminer la nature si nous ne les avions retrouvées dans des lésions de métrite hémorragique chez le cobaye. Les corpuscules étaient accolés au bacille lui-même.

Conclusions. — Les dimensions du bacille de la nécrose isolé d'abcès du foie du bœuf sont donc bien différentes de celles indiquées par Cesari et Alleaux (I) pour le bacille isolé de foyers métastatiques du poumon du cheval.

La largeur est bien moins grande :

Pour notre bacille 0 μ , 25

Pour le bacille équin 0 μ , 7 à 1 μ .

Les formes, d'autre part, sont toujours moins longues : ce qui peut être expliqué, à notre avis, par le fait que les abcès dont nous avons isolé nos bacilles sont des lésions plus anciennes que les foyers métastatiques nécrotiques du poumon du cheval.

Nos bacilles inoculés au lapin donnaient dans les foyers de nécrose récents (poumon ou foie) des formes filamenteuses ; dans les abcès toujours des formes courtes.

CULTURES

L'isolement du bacille est facile quand il est en culture pure ou même quand il est le germe nettement dominant.

Si, par contre, une préparation montre une majorité de microbes autres que le b. de la nécrose, l'isolement serait trop difficile à obtenir, il vaut mieux ne pas le tenter.

*
* *

Le bacille de la nécrose est strictement anaérobie.

Pour obtenir son développement dans les milieux liquides il est nécessaire de priver ces milieux d'oxygène.

soit par l'emploi combiné du vide et de l'hydrogène, soit par addition de toute substance susceptible d'absorber l'oxygène. (Nous avons employé couramment le sulfure de calcium qui semble faciliter tout particulièrement le développement du bacille qui nous occupe).

En milieu solide le développement peut être obtenu dans tous les milieux glucosés (gélose Veillon et autres).

Le bacille se développe bien à l'étuve entre 33° et 38°.

Il ne pousse bien qu'en milieu neutre ou légèrement alcalin.

*
* *

Au début de notre étude nous ensemencions les milieux neufs avec seulement V à X gouttes de cultures anciennes. Mais très souvent les cultures ne poussaient pas et il nous était très difficile de travailler régulièrement.

Aussi avons-nous été amené à ensemencer très largement. Nous avons ajouté et ajoutons encore 1 à 2 cc de culture ancienne.

Ainsi nous n'avons pour ainsi dire jamais eu d'insuccès.

CARACTÈRES DES CULTURES

Milieu Martin simple. — Vers la 6^e heure le plus souvent, parfois à partir de la 4^e heure, on peut voir des bulles de gaz qui semblent se détacher du fond du tube et qui lentement remontent à la surface.

Le liquide est encore clair : il se trouble dans les heures qui suivent, uniformément. Vers la dixième heure le trouble est manifeste. Par agitation on fait apparaître des ondes soyeuses, moirées, d'autant plus riches que l'heure est plus avancée.

Le lendemain le liquide est moins trouble et au fond du tube on constate un dépôt blanc sale, floconneux parfois, le plus souvent homogène. Quelques jours après le liquide est parfaitement limpide, le dépôt plus abondant que le premier jour.

Une culture de 24 heures centrifugée pendant cinq minutes donne un culot blanc à la périphérie, verdâtre au centre.

Milieus glucosés. (Bouillon Martin glucosé à 2 p. 1.000, panse glucosée à 2 0/00, milieu T).

Les cultures se développent plus abondamment et plus rapidement. Le dégagement gazeux surtout est plus marqué.

En gélatine liquide, le milieu se trouble, quelques

bulles de gaz se dégagent, des flocons noirâtres, sales apparaissent et restent longtemps en suspension. La gélatine fait prise après refroidissement.

En gélose Veillon apparaissent dès le troisième ou quatrième jour, mais parfois beaucoup plus tardivement vers le quinzième et même le vingtième jour de petites colonies sphériques ou lenticulaires, blanchâtres. Leur grosseur ne dépasse jamais celle d'une tête d'épingle.

Le lait est coagulé en quatre jours, le coagulum n'est jamais digéré.

Les cultures du bacille de la nécrose dégagent une odeur fétide tout à fait caractéristique.

Caractères biochimiques

Le bacille de la nécrose fermente le glucose. La quantité de gaz dégagée est variable avec les échantillons.

Nous avons fait avec trois de nos souches l'expérience suivante :

Nous choisissons trois tubes aussi égaux que possible (longueur, diamètre, épaisseur). Nous introduisons dans chacun d'eux la même quantité de milieu T. Nous prenons, d'autre part, trois petites éprouvettes égales (longueur, diamètre, épaisseur). Nous plongeons dans chaque tube une éprouvette, la partie fermée tournée vers le haut, et émergeant du liquide.

Les tubes sont ensuite placés à l'autoclave à 115° pendant un quart d'heure. Au bout de ce temps l'air a été entièrement chassé des éprouvettes qui sont pleines de liquide.

Nous introduisons alors aseptiquement dans chaque tube la même quantité de sulfure de calcium et nous ensemençons chacun d'eux respectivement avec X gouttes de nos souches A. E. V.

Les cultures se développent très lentement. (X gouttes ne permettent pas même en milieu sulfuré un développement très rapide).

Le surlendemain le dégagement gazeux est arrêté dans chaque tube.

Nous mesurons la colonne gazeuse de chaque éprouvette.

Cela nous donne les résultats suivants :

A = 89 mm

E = 57 mm

V = 68 mm

Le bacille de la nécrose fermente le lactose.

Il n'est doué d'aucun pouvoir protéolytique. Il ne liquéfie pas la gélatine.

Enfin il produit abondamment de l'indol.

Moyens de conservation

Au début de notre étude nous conservions le B. N. à la glacière en tubes de Bouillon Martin scellés dans lesquels nous avions fait au préalable le vide.

Mais la vitalité du bacille ne se conservait pas plus de 15 à 20 jours, parfois moins — aussi avons-nous été amené à choisir un autre procédé de conservation.

Nous employons actuellement les cultures en gélatine T additionnée de sulfure de calcium.

La technique est très simple.

Nous mettons à l'étuve des tubes de gélatine T. Dès que la gélatine est liquéfiée, les tubes sont additionnés de sulfure de calcium,ensemencés et mis à l'étuve.

Le lendemain la culture a abondamment poussé. Les tubes sont alors étirés, portés à la trompe à vide pour enlever l'air se trouvant dans le tube, rincés deux ou trois fois à l'hydrogène, scellés, et mis à la glacière.

La vitalité se conserve ainsi au moins un mois, souvent deux.

POUVOIR PATHOGÈNE EXPÉRIMENTAL

EXPÉRIENCES SUR LE COBAYE

Les inoculations aux animaux ont toujours été faites avec des cultures de 24 heures dans le vide.

Nous avons employé le plus souvent des cultures en bouillon Martin non glucosé, parfois en milieux glucosés (Milieu T, bouillon Martin glucosé à 2 p. 1.000) spécialement pour l'inoculation de liquides clairs.

Inoculations sous-cutanées

L'inoculation de 1 à 2 cc de cultures totales provoque chez le cobaye des symptômes que l'on peut rapporter à deux types cliniques distincts.

Premier type (apparition d'une tache de nécrose sur la peau pendant les premières 24 heures qui suivent l'inoculation).

Le lendemain (de 12 à 18 heures) on constate au point d'inoculation un œdème mou mal délimité, crépitant, couronné d'une tache violette du diamètre d'un pois ou d'une pièce de cinquante centimes.

24 heures après la tache violette s'auréole d'une zone congestive à contours irréguliers, indécis. Le deuxième jour, l'œdème durcit ; la tache violette est devenue verte, ses contours sont très nets. Parfois elle s'est

annexée la zone congestive décrite ci-dessus ; parfois cette zone est devenue presque normale.

Le troisième jour, la tache est humide et commence à se couvrir d'exsudats brunâtres qui se dessèchent. La peau à ce niveau devient noirâtre.

Elle se dessèche dans les jours suivants, se plisse, se rétracte, mettant à nu un bourbillon sous-jacent (exsudat nécrosé en bloc).

L'eschare tombe vers le huitième ou le dixième jour entraînant avec elle une partie du bourbillon.

Il reste un ulcère béant à bords épais couronnant un empâtement très net.

Par pression, on peut faire sortir un peu de pus ou des fragments de tissus nécrosés.

L'empâtement disparaît peu à peu, l'ulcère se cicatrise et tout est terminé en une vingtaine de jours.

Il convient de noter que la tache de la peau n'apparaît jamais dans les toutes premières heures qui suivent l'inoculation. L'œdème apparaît d'abord, la tache ensuite, très rarement avant la dixième heure. Son évolution est parfois plus rapide que dans le cas décrit ci-dessus : elle peut être verte dès le premier jour et humide peu après. Dans ce cas elle s'étend et peut atteindre la taille d'une pièce de un franc.

La guérison est la règle.

La mort peut cependant survenir par suite d'infections secondaires et dans quelques cas, très rares d'ailleurs, sans que l'on puisse incriminer d'infections secondaires.

Notre souche G tue assez souvent le cobaye : la lésion

qui se développe au point d'inoculation n'arrive pas à se délimiter ; du pus s'infiltré, s'étend loin du point d'inoculation, décolle la peau jusqu'au sternum (si l'inoculation a lieu au niveau de l'ombilic). La mort survient après un amaigrissement extrême.

2° *Type II* (Il ne se forme pas de tache sur la peau dans les premières 24 heures).

Le lendemain on constate, au point d'inoculation, un œdème mou de la grosseur d'une noix ou d'un œuf de pigeon, sans tache ni violette, ni verte.

L'œdème durcit dans les jours suivants et se délimite. Dès le deuxième ou le quatrième jour, on peut percevoir un point fluctuant. Dans les jours qui suivent le foyer réactionnel est devenu un abcès nettement délimité et fluctuant.

Cet abcès peut rester ainsi sans incommoder l'animal pendant 5, 10, 20 jours et même davantage. Mais le plus souvent vers le dixième jour une très petite tache nécrotique régulièrement ronde apparaît ; à son niveau se forme très vite un ulcère à l'emporte-pièce par lequel le pus s'écoule.

La cicatrisation est alors très rapide.

Si on inocule, le même jour, deux animaux du même poids avec respectivement 1 cc et 2 cc de culture totale de la même souche, ce n'est pas nécessairement le cobaye qui a reçu 2 cc qui présentera les lésions du type I.

Bien souvent c'est le contraire.

D'autre part, si à un cobaye guéri, qui lors d'une première inoculation sous-cutanée a réagi d'après le type I (eschare précoce) on injecte à nouveau 1 à 2 cc de cul-

ture locale sous la peau, la lésion qui se développe est toujours du type II (bourbillon sans eschare).

Enfin, lors d'une troisième, quatrième, cinquième inoculations, l'animal réagit toujours par des lésions semblables (pour ne pas dire identiques) à celles qui ont été constatées lors de la deuxième inoculation.

Inoculations de liquides clairs

(Cultures de 24 heures centrifugées pendant 10').

L'inoculation de 1 cc à 2 cc de liquide clair ne produit jamais qu'un peu d'œdème qui disparaît très rapidement.

Une seule fois, avec 2 cent. cubes d'une culture de 24 heures en milieu Martin glucosé à 2 0/00 chez un cobaye de 270 grammes, ayant la peau très fine), nous avons observé, couronnant l'œdème, une petite tache violette du diamètre d'une pièce de cinquante centimes. Cette tache est devenue verte, humide, puis noirâtre, a fait place à une croûte qui s'est éliminée en huit jours.

Nous n'avons jamais pu reproduire ces lésions, ni avec la même souche (B) ni avec aucune des neuf autres souches que nous avons étudiées (notamment avec la souche D, isolée du séquestre signalé page 13).

Si l'on se reporte au travail de M. Césari sur le bacille de la nécrose équin (Ann. Inst. Pasteur, 1912) (I) on verra qu'avec les liquides clairs des cultures de ce bacille se développaient chez les cobayes d'une manière constante des lésions analogues, mais plus intenses, à celles

que nous avons obtenues une seule fois avec notre souche (B).

Si l'on remarque, d'autre part, que l'inoculation de cultures totales ne provoque pas toujours l'apparition d'une tache nécrotique, et qu'enfin cette tache n'apparaît jamais avant la dixième ou douzième heure, on ne peut s'empêcher de conclure que le bacille de la nécrose isolé des abcès du foie du bœuf ne donne dans les milieux de cultures qu'une toxine soluble infiniment moins active pour le cobaye (toxine que l'inoculation sous-cutanée ne peut le plus souvent révéler).

Les inoculations intraveineuses et intrapéritonéales confirment d'ailleurs cette manière de voir.

En effet, l'inoculation intraveineuse de 1 cc ou 2 cc de cultures totales ou de liquides clairs ne provoque pour ainsi dire jamais la mort brutale sur la table d'opération. (Une seule fois avec 2 cc de liquide clair, l'animal qui s'était fortement débattu avant l'inoculation, est mort dans des convulsions, quelques secondes à peine après celle-ci. Nous avons attribué cette mort rapide à un accident, mais l'autopsie n'a pu le démontrer.)

Le plus souvent, après l'inoculation, les animaux sont tristes, hébétés, la respiration est rapide, parfois tumultueuse, le poil hérissé. Les animaux se tiennent dans un coin de la cage sans bouger.

La mort survient vers la douzième ou la vingt-quatrième heure.

A l'autopsie on ne constate pas de lésions (une fois cependant nous avons trouvé de larges ecchymoses sur

la muqueuse stomacale), pas de microbes dans le sang du cœur.

Enfin, les animaux peuvent survivre plus longtemps, même guérir.

Un de nos animaux qui avait reçu 1 cc de culture totale, est mort le quatrième jour. A l'autopsie, nous avons constaté les lésions suivantes :

Métrite hémorragique, larges placards hémorragiques sur la muqueuse utérine. Cet exsudat renfermait de nombreux bacilles de la nécrose, avec des formes globuleuses accolées aux bacilles — et de nombreux cocci, Gram positifs. Le sang du cœur renfermait quelques bacilles.

Quelques animaux ayant reçu 1 cc de liquide clair ont survécu.

L'Inoculation intrapéritonéale de 2 cc de culture totale entraîne la mort en 8 à 10 jours.

Les animaux perdent l'appétit, maigrissent, se tiennent constamment immobiles, le dos voussé, le poil hérissé. Ils paraissent beaucoup souffrir quand leurs voisins les heurtent au passage.

A l'autopsie, on trouve des signes de péritonite fibrineuse et des abcès du foie. (Le péritoine ne contient jamais que très peu de liquide.)

*
* *

Conclusions.

Le bacille bovin est donc incomparablement moins toxique pour le cobaye que le bacille équin.

Il semble d'autre part que certaines souches bovines sont douées d'une virulence plus marquée pour cet animal.

Mais ce point demanderait à être précisé dans de nouvelles expériences, en employant des doses plus faibles.

EXPÉRIENCES CHEZ LE LAPIN

Inoculations sous-cutanées. — Après l'inoculation sous-cutanée de 1 cc de culture totale, on constate le lendemain au point d'inoculation un œdème de la grosseur d'un œuf de pigeon ou même d'un œuf de poule : (œdème mou, mal délimité, crépitant) par places des zones diffuses de congestion intense, et le plus souvent une tache violette de la grosseur d'une pièce de deux francs.

Cette tache n'est pas toujours observée le premier jour ; elle apparaît alors le deuxième : elle est constante.

Le 2^e jour l'œdème durcit ; la tache devient verdâtre.

Le 3^e jour elle est de couleur feuille morte et humide.

Le 5^e jour elle est noirâtre : la peau à son niveau commence à se dessécher, à se plisser. Elle se plisse davantage dès les jours suivants, se rétracte et laisse voir un énorme bourbillon sous-jacent. L'animal est triste, ne mange plus, maigrit. Il maigrit de plus en plus dans les jours qui suivent et la mort survient vers le 10^e jour avant l'élimination de l'eschare.

Tous les lapins neufs que nous avons inoculés avec 1 cc de culture totale sont morts.

Autopsie. — En dehors du foyer du point d'inoculation, on observe toujours une infiltration de pus sous la peau, qui peut parfois s'étendre très loin du point d'inoculation, et parfois décoller entièrement la peau sur toute l'étendue d'un membre.

On n'observe jamais de lésions des organes internes.

Liquide clair. — L'inoculation sous-cutanée de 1 cc, et 2 cc de liquide clair n'est jamais suivie d'effets.

Inoculations intradermiques

La peau du lapin est très peu épaisse : les inoculations intra-dermiques ne semblent donc pas devoir être faciles chez cet animal. On arrive cependant à introduire dans l'épaisseur même de la peau 10^{-1} cc ou même 2×10^{-1} cc ; avec la certitude de ne pas intéresser le tissu conjonctif sous-cutané. Il est nécessaire pour cela d'employer des aiguilles très fines et très courtes du type qui est employé couramment dans les laboratoires pour les inoculations intraveineuses chez la souris.

Il conviendrait également d'opérer avec des seringues dont le diamètre du corps de pompe serait très faible, et dont les divisions de la tige du piston indiqueraient très exactement les dixièmes de cc.

L'inoculation est plus facile à réaliser sur la peau du dos.

Pour cela l'animal est pris dans un mors de Malassez qui est suspendu à un crochet fixé au mur (le dos de l'animal tourné vers l'opérateur). La peau est épilée à

l'endroit choisi. L'opérateur saisit l'animal de la main gauche au niveau de la croupe, de manière à tendre très fortement la peau du dos. De la main droite il prend la seringue armée et la plaçant tangentiellement à la peau il la pousse très fort dans l'épaisseur de celle-ci. Il est nécessaire d'exercer une très forte pression sur la seringue et de tendre, en même temps, très fortement la peau du dos. Les aiguilles fines et longues ne résistent pas à cette manœuvre : elles plient et cassent.

Si la piqûre est parfaitement réussie, il se forme une véritable phlyctène dont les dimensions varient avec la quantité de liquide injectée, et qui disparaît très lentement.

Si le liquide est inoculé dans le tissu conjonctif sous-cutané, on le voit diffuser, se répandre sous la peau.

Si on inocule de 10^{-1} à 2×10^{-1} cc, on constate le lendemain une infiltration diffuse de la peau au point d'inoculation avec au centre une tache verte (jaune soufré) du diamètre d'un pois.

Cette lésion initiale toujours observée peut évoluer de trois manières différentes :

1° La tache verte ne s'étend pas.

Trois jours après on a un véritable petit bouton très bien délimité qui reproduit exactement la phlyctène observée immédiatement après l'inoculation, bouton surmonté de la tache verte.

Celle-ci noircit, un sillon se forme à la périphérie ; l'eschare s'élimine. L'exsudat nécrosé sous-jacent est éliminé peu après.

La guérison complète demande 15 à 20 jours.

2° La tache verte s'étend : elle peut atteindre parfois les dimensions d'une pièce de un franc, même de deux francs.

Le bouton qui se délimite peu après est bien entendu plus volumineux.

La tache devient humide, noirâtre, un sillon se forme à la périphérie. Mais l'eschare ne s'élimine pas : elle devient grisâtre, très dure, s'affaisse au centre d'abord, puis sur toute son aire. Elle adhère très fortement au foyer de nécrose sous-jacent. L'animal ne mange plus, maigrit. Les régions de la peau voisines du point d'inoculation deviennent crépitantes au toucher. L'animal finit par mourir après un amaigrissement extrême.

A l'autopsie, on constate que du pus s'est infiltré sous la peau très loin du point d'inoculation.

3° Dès le 2° ou 3° jour, on voit apparaître des taches lie de vin dans l'épaisseur de la peau à quelques millimètres, parfois à un centimètre du point d'inoculation. Il se forme deux foyers, parfois trois foyers de nécrose qui finissent par se rejoindre.

La mort survient toujours.

Inoculations intraveineuses

L'inoculation dans la veine marginale de l'oreille de 10 -¹ cc de culture totale provoque toujours la mort avec les symptômes les plus variés.

L'animal maigrit dès les premiers jours qui suivent l'inoculation.

Vers le 6^e ou le 8^e jour le souvent apparaissent des arthrites du grasset, du jarret, de l'épaule ou des synovites des gaines tendineuses des membres antérieurs ou postérieurs.

D'autres fois se produisent d'emblée des troubles locomoteurs qu'on ne peut rattacher à une lésion bien apparente. La paralysie du train postérieur est très souvent observée. Quelquefois l'animal hésite à marcher et, dès les premiers pas, le corps roule du côté droit ou du côté gauche.

L'animal maigrit beaucoup et meurt.

La mort a lieu le plus souvent au bout de quinze à vingt jours.

Parfois, cependant, l'animal inoculé ne manifeste aucun symptôme pendant quinze jours à trois semaines. Mais vers cette date des arthrites ou des troubles locomoteurs apparaissent. La mort survient ainsi vers le 30^e-40^e jour.

A l'autopsie, on constate les lésions les plus variées : des foyers purulents dans les articulations (articulations des membres, articulations intervertébrales), et dans les synoviales des gaines tendineuses ; des foyers de nécrose, des foyers purulents dans les muscles du dos ou des membres, de volumineux abcès de la région costale ou sous-lombaire ; enfin, des foyers de nécrose et des abcès du foie, du poumon ou même du cœur.

Comme on le voit ces lésions sont entièrement superposables à celles observées avec le bacille équin.

(Avec 1 cc de culture totale les symptômes observés, et les lésions ne diffèrent pas sensiblement de ceux obtenus avec 10^{-1} cc.)

Conclusion. — Le bacille bovin est doué d'une virulence pour le lapin très comparable à celle du bacille équin.

Son pouvoir toxique ne paraît pas plus accusé.

*
* *

Toxine soluble

Les très nombreuses expériences condensées ci-dessus n'ont pas permis de mettre en évidence dans les cultures du bacille bovin une toxine soluble très active vis-à-vis des animaux de laboratoire.

Bahr (VI), dans le laboratoire de Jensen, était arrivé au même résultat, sans indiquer d'ailleurs l'origine des bacilles avec lesquels il avait fait ses recherches.

Les travaux de Césari démontrent par contre que les souches équines donnent dans les milieux de culture une toxine très active vis-à-vis du cobaye.

*
* *

Endotoxine

L'injection de microbes morts provoque chez l'animal des abcès au point d'inoculation (que celle-ci ait

lieu dans les muscles, sous la peau ou dans la peau même). Ces lésions sont bien tolérées par l'animal.

Parfois, cependant, au cours de la préparation du lapin par inoculation intra-musculaire de bacilles traités par l'alcool-éther la mort survient sans que l'on puisse l'expliquer autrement que par des accidents toxiques.

*
* *

Hémotoxine

Le bacille bovin secrète dans les milieux de culture une hémotoxine le plus souvent fort peu active.

Pour notre souche V cependant elle pouvait très facilement être mise en évidence et nous l'avons étudiée avec quelque détail.

Technique. — I) Le sang recueilli dans un ballon contenant des billes de verre était agité pendant 10 à 20 minutes afin d'éviter qu'il ne coagule. Il était ensuite décanté et centrifugé. Après la première centrifugation (10' dans la centrifugeuse de Jouan), le sérum était aspiré avec une pipette à boule, et remplacé par une quantité rigoureusement égale d'eau physiologique à 1 p. 100. La même opération était renouvelée, après une deuxième et une troisième centrifugation.

L'émulsion de globules ainsi obtenue était toujours employée sans dilution.

II) Les cultures (c'étaient toujours des cultures en bouillon Martin glucosé à 2 0/00) étaient centrifugées

pendant 10 minutes, et le liquide était recueilli avec une pipette à boule.

Le liquide clair était également employé sans dilution.

III) Une série de sept tubes était disposée sur un portoir et chaque tube recevait respectivement les quantités indiquées ci-dessous de liquide clair, bouillon Martin glucosé neuf et de globules.

Tubes	{ 1	2	3	4	5	6	7
Liquide clair	{ XX	XV	X	V	III	II	I
Bouillon Martin glucosé neuf	{ O	V	X	XV	XVII	XVIII	XIX
Globules	{ I	I	I	I	I	I	I

Les tubes étaient agités et mis à l'étuve : on lisait les résultats après une heure.

Nous indiquerons très brièvement les résultats obtenus :

XX gouttes de liquide clair n'hémolysaient pas une goutte de globules de mouton.

XX gouttes de liquide clair n'hémolysaient pas une goutte de globules de lapin.

XV gouttes de liquide clair hémolysaient une goutte globules de bœuf.

X et parfois VI gouttes de liquide clair hémolysaient une goutte globules de cheval.

L'hémolysine était plus active dans les cultures de 24 heures que dans celles de 48 heures.

Les cultures totales n'étaient pas sensiblement plus actives que les liquides clairs.

Les microbes lavés, émulsionnés dans l'eau physiologique à 1 p. 100 n'étaient jamais actifs (même après séjour de 24 heures et 48 heures à la glacière).

L'hémolyse était affaiblie par séjour de 1 heure à 33°.

Elle était détruite par séjour de 1 heure à 40°.

Elle était détruite après chauffage pendant 30' à 52°.

Détruite également par chauffage de 5' à 100°.

*

* *

Nous indiquerons, en terminant ce chapitre, que le sérum des lapins préparés avec des bacilles traités par l'alcool-éther (de cette même souche V) neutralisait *in vitro* l'hémotoxine, alors que la même dose de sérum des animaux préparés avec la souche équine et le sérum des lapins normaux, ne faisait que la rendre moins active.

Les antisérums homologues semblent donc contenir une véritable antihémolysine.

Nous ferons cependant remarquer que les antisérums étaient préparés par inoculation au lapin de bacilles traités par l'alcool-éther : et que dans nos expériences les corps microbiens se sont toujours montrés dépourvus de tout pouvoir hémotoxique.

C'est là un fait que nous nous devons de signaler mais que nous ne tenterons pas d'expliquer.

CARACTÈRES ANTIGÈNES

Le sérum des lapins atteints de la maladie expérimentale agglutine le bacille de la nécrose.

Il en est de même du sérum des lapins, qui ont reçu sous la peau ou dans les muscles une dose suffisante de bacilles traités par l'alcool-éther.

Ces deux faits ont été bien établis par M. Césari avec le bacille équin.

Comme M. Césari avait gracieusement mis à notre disposition des bacilles équins traités par l'alcool-éther, qui étaient conservés au laboratoire depuis ses dernières expériences, nous avons préparé des lapins par inoculation intra-musculaire de :

1° bacilles équins

2° bacilles bovins (souche V)

Les lapins recevaient de 4 à 6 cgrs. de bacilles en quatre injections intra-musculaires, à huit jours d'intervalle l'une de l'autre. Huit jours après la dernière inoculation ils étaient saignés à blanc à la carotide. Le sérum recueilli était centrifugé, chauffé à 55° pendant 30 minutes et conservé en tubes scellés à la glacière.

EXPÉRIENCES D'AGGLUTINATION

Nous avons éprouvé le pouvoir agglutinant des sérums obtenus vis-à-vis de nos diverses souches.

1° par la méthode classique,

2° par culture en milieu renfermant des antisérums.

1° Méthode classique

Les bacilles employés provenaient toujours de cultures de 24 heures en bouillon Martin non glucosé dans le vide (jamais les cultures n'étaient additionnées de sulfure de calcium). Les cultures étaient centrifugées 10' à la centrifugeuse Jouan et le culot de centrifugation était émulsionné dans l'eau physiologique à 1 p. 100 dans la proportion de 1 cgr. de bacilles pour 20 cc d'eau physiologique.

1^{re} SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Souches	B	V	A	D	E
Anti-sérums d'origine équine					
1° R - 25	0	0	0	0	0
2° J - 15	0	0	0	0	0

Souches	B	V	A	D	E
Anti-sérums d'origine bovine souche V					
1° J - 17	1/2000	1/200	1/200	0	0
2° R - 17	1/500	0	1/100	0	0
Sérum lapin normal	0	0	0	0	0

Il faut noter que, dans cette série d'expériences, il n'était pas employé de dilutions de sérum en deçà du 1/50°.

2° SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Souches	G	J	S	C	H
Anti-sérum équin					
R - 20	1/20	1/20	1/10	0	0
Anti-sérums bovins (souche V)					
J - 10	1/200	1/50	1/20	0	0
J - 7	1/100	1/20	1/50	0	0
Sérum lapin normal	0	0	0	0	0

De ces expériences on peut conclure :

1°) Que les antisérums préparés avec les bacilles équins se montrent moins actifs que les antisérums préparés avec le bacille bovin, vis-à-vis des bacilles bovins.

2°) Il existe pour le bacille bovin de nombreux échantillons inagglutinables.

Ces faits nous avaient conduit à penser qu'il pouvait exister pour le bacille de la nécrose bovin comme pour le pneumocoque des groupes d'agglutination.

Aussi, avons-nous préparé des antisérums avec un de nos échantillons inagglutinables (E) avec lesquels nous avons éprouvé trois de nos souches.

Souches	V	A	E
Anti-sérum bovin			
Anti E	0	0	0
Anti-sérum bovin			
Anti V	1/560	1/500	0

L'échantillon E n'est donc pas agglutinable par son propre antisérum.

Les antisérums préparés avec cette souche n'agglutinent pas les échantillons qui sont fortement agglutinés par les autres antisérums.

1° Nos expériences ne nous ont donc pas permis de démontrer l'existence de groupes d'agglutination.

2° Il y aurait, semble-t-il, seulement :

a) des échantillons agglutinables,

b) des échantillons inagglutinables par les antisérums (nous ajoutons à dessein par les antisérums, car l'échantillon E était agglutiné au 1/50° par le sérum d'un lapin atteint de la maladie expérimentale).

3° Ces échantillons inagglutinables ne seraient même pas agglutinés par leur propre antisérum et seraient dépourvus de tout pouvoir antigène actif (pouvoir anti-poïétique).

2° **Epreuve d'agglutination par la culture dans les milieux contenant des antisérums**

(Agglutination à l'état naissant)

Ces milieux étaient composés de :

Bouillon Martin non glucosé..... 9 parties

Antisérums 1 partie

Le mélange était filtré sur bougie Chamberland et réparti en tubes qui étaient éprouvés à l'étuve pendant 24 heures.

Il suffit d'ensemencer les tubes avec des cultures de quelques jours : de l'étirer, de chasser l'oxygène du liquide par l'emploi combiné du vide et de l'hydrogène, de sceller les tubes et de les placer à l'étuve (1).

30 minutes après l'ensemencement, apparaissent dans le liquide des flocons qui restent longtemps en suspension.

(1) Ce sont les cultures ainsi obtenues qui nous ont servi dans nos essais d'immunisation par les virus sensibilisés à l'état naissant.

De 2 à 3 heures après, des bulles de gaz se dégagent (le tube contient toujours des flocons en suspension).

6^e heure — dépôt important au fond du tube — les flocons sont moins nombreux.

Vers la 8^e ou 10^e heure, le liquide est tout à fait clair — le dépôt est très important.

Les bulles de gaz se dégagent toujours.

Dans les heures qui suivent, si l'antisérum n'est pas très agglutinant pour l'échantillon ensemencé, le liquide redevient trouble : le liquide reste au contraire parfaitement limpide si le sérum est très actif.

Dans le cas où le sérum est très peu agglutinant, les flocons ne sont jamais bien nets, un dépôt assez important est toujours visible au fond du tube, mais le liquide n'est jamais limpide. (C'est ce qui avait toujours lieu dans les cas où l'antisérum entrant dans la composition du mélange était un antisérum équin).

Notre souche E était entièrement inagglutinable par ce procédé.

Conclusions

De toutes ces expériences on peut conclure que le bacille bovin est plus fortement agglutiné par les antisérums préparés avec des souches bovines, que par ceux préparés avec des souches équines.

Mais que ce fait peut être souvent masqué par l'existence de très nombreux échantillons inagglutinables.

DÉVIATION DU COMPLÉMENT

Les expériences ont été faites en suivant la méthode de Calmette et Massol.

Nous avons employé, comme antigène, des bacilles bovins (souche V) traités par l'alcool-éther en émulsion dans l'eau physiologique à 1 p. 100 dans la proportion de 1 cgr. de bacilles pour 20 cc d'eau physiologique. L'émulsion était chauffée 5' à 100°.

Comme alexine, nous nous sommes servis de sérum frais de cobaye, dilué au 1/10°.

Nous avons fait l'expérience avec :

- 1° Un sérum de lapin préparé avec la souche bovine V.
- 2° Un sérum de lapin préparé avec la souche bovine E.
- 3° Un sérum de lapin préparé avec une souche équine.
- 4° Un sérum de lapin normal.

Résultats

En présence de l'antigène V :

L'antisérum I (anti V) fixe 10 gouttes de complément dilué au 1/10 de plus qu'en l'absence d'antigène.

L'antisérum II (anti E) fixe 2 gouttes de complément dilué au 1/10 de plus qu'en l'absence d'antigène.

L'antisérum III (antiéquin) 6 gouttes de complément dilué au 1/10 de plus qu'en l'absence d'antigène.

Le sérum de lapin normal IV 0 gouttes de complément dilué au 1/10 de plus qu'en l'absence d'antigène.

*
* *

L'antisérum préparé avec la souche V dévie le complément plus fortement que l'antisérum préparé avec le bacille équin.

L'antisérum préparé avec la souche E dévie le complément plus faiblement que l'antisérum équin.

Cet échantillon E, qui donne des antisérums, n'agglutinant pas les autres souches bovines, ne fixant que très faiblement l'alexine, doit être considéré comme un très mauvais antigène, à peu près dépourvu de pouvoir antipoïétique.

*
* *

Les antisérums homologues ajoutés au milieu de cultureensemencé n'entravent en rien la fermentation des sucres et n'empêchent pas la coagulation du lait.

Ils sont très nettement antihémolytiques.

IMMUNISATION

L'immunisation contre le bacille de la nécrose a fait l'objet d'un très important travail de M. Césari (I), qui avait cherché à réaliser :

1°) L'immunisation antitoxique (et cela plus particulièrement chez le cobaye) animal très sensible à la toxine du bacille équin.

2°) L'immunisation antimicrobienne chez le lapin animal plus régulièrement sensible au microbe lui-même.

Nous indiquerons brièvement les résultats auxquels il était parvenu.

1° *Immunisation antitoxique.* — L'immunisation active pouvait être facilement réalisée tant par la voie sous-cutanée que par la voie veineuse.

Le sérum des animaux immunisés conférait l'immunité passive aux animaux auxquels il était injecté en quantité suffisante.

2° *Immunisation antimicrobienne.* — Les très nombreuses expériences entreprises pour conférer au lapin l'immunité antimicrobienne n'avaient abouti qu'à des échecs.

Cependant, l'inoculation intraveineuse d'un mélange virus-sérum (il s'agit d'un sérum préparé selon la technique indiquée page 43) avait donné des résultats intéressants.

Pour permettre de comparer les résultats obtenus par M. Césari, avec ceux obtenus ultérieurement avec

d'autres méthodes, nous reproduisons intégralement ce qu'il écrivait dans le *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, année 1923, p. 549.

Le 25/12/1922, le lapin R... pesant 2.500 gr. reçut en injection intraveineuse, un mélange de 10^{-4} cc de culture du bacille de la nécrose, et de 10^{-4} cc d'anti-sérum, après une heure de contact. Le 28/12/22, l'animal pèse 2.460 gr. Le 1^{er} janvier 23, 2.370 gr. Pas de symptôme clinique révélant l'infection. Le 22/1/23 le poids de l'animal atteint 2.550 grammes.

On injecte ce jour 10^{-4} cc de culture dans la veine. Aucun signe clinique n'apparaît à la suite de cette deuxième inoculation virulente. Le 26/1/23, le lapin pèse 2.560 grammes et 2.620 le 30/1. Le 13/2/23, on pratique une saignée d'essai. Le sérum agglutine le bacille de la nécrose au 1/250.

Le 14/2/23 on inocule dans la veine 2×10^{-4} cc de culture. Le 22 février, aucune lésion n'est apparente et l'animal pèse 2.700 gr. Le 26/2/23, on perçoit une tuméfaction de la grosseur d'un œuf de pigeon au niveau de l'articulation scapulo-humérale droite. Le 18 mars, l'arthrite de l'épaule atteint la grosseur d'une orange : le poids de l'animal est tombé à 2.380 grammes. Le lapin continue à maigrir dès les jours qui suivent. Il est sacrifié le 21 mars, poids 2.160 grammes.

D'autres expériences faites chez le lapin et chez le cobaye, ajoutait M. Césari, ont montré que l'état d'immunité créé par les mélanges virus-sérums n'était ni fort ni durable. La résistance à l'infection observée chez quelques sujets n'est même pas constante, et elle

ne se traduit souvent que par un retard dans l'évolution des lésions. On arrive toujours d'ailleurs à la surmonter lorsqu'on augmente tant soit peu la dose de virus d'épreuve.

La conclusion de l'étude était que l'immunisation antimicrobienne n'était pas réalisée, qu'elle n'était probablement pas réalisable (envers le bacille de la nécrose d'ailleurs comme envers les divers agents des infections chroniques).

Les résultats intéressants signalés par Basset (VII), chez le cobaye lui paraissaient explicables par un certain degré d'immunité antitoxique.

*
* *

Quant à nous, nous ne pouvions songer à tenter l'immunisation antitoxique du cobaye avec le bacille bovin, car nous ne possédions pas de souche suffisamment toxique qui pût nous servir lors des inoculations d'épreuve.

(Nous rappellerons une fois de plus que nous n'avions pu nous procurer de souche équine).

Nous ferons cependant remarquer ici qu'il convient d'expliquer par l'immunité antitoxique les faits signalés page 29 et observés lors des inoculations répétées sous la peau du cobaye.

Si, à la première inoculation, il se produit une eschare, il ne s'en produit pas lors des inoculations suivantes. Dès la deuxième inoculation, c'est un bourbillon sans eschare qui se forme et, à la troisième, à la quatrième,

à la cinquième inoculations les lésions reproduisent presque exactement celles constatées lors de la deuxième.

Ces faits semblent également démontrer que l'immunité antimicrobienne ne saurait être obtenue chez le cobaye.

De fait, aucun auteur n'a, à notre connaissance, signalé qu'il avait rendu des animaux réfractaires à l'inoculation sous-cutanée de cultures virulentes.

En inoculation intra-péritonéale on arrive pourtant à faire supporter à des animaux préparés des doses mortelles pour des animaux neufs. Basset (VII) a signalé cela, ainsi que Bahr (cité par Jensen) (VIII). Mais les souches de Basset étaient toxiques pour le cobaye, et Bahr n'a pas publié le détail de ses expériences.

Nous avons, il est vrai, constaté qu'un de nos cobayes, qui répondait toujours à l'inoculation sous-cutanée de la manière classique, supportait en inoculation intra-péritonéale 2 cc d'une culture (souche G) qui tuait les autres animaux en 8 jours avec péritonite et abcès du foie.

Mais nous n'avons observé ce fait qu'une fois et il serait nécessaire de le reproduire.

* * *

Quant à l'immunité antimicrobienne du lapin, les résultats décevants obtenus par M. Césari nous eussent vraisemblablement détourné de l'entreprendre à nouveau si Harnach n'avait annoncé qu'il l'avait réalisée.

Harnach (IX) était parti de considérations théoriques inspirées des idées de Besredka. Le bacille de la nécrose, disait-il, présente une affinité « considérable » (1) pour les tissus épithéliaux d'origine ectodermique. C'est donc la peau qu'il faut essayer d'immuniser, si l'on veut immuniser l'animal.

Ces considérations conduisaient tout naturellement Harnach à tenter l'immunisation du lapin par la voie intra-dermique.

Il opérait en deux temps :

1°) Inoculation de 2×10^{-4} cc de culture totale formolée à 5/00 (le formol était ajouté à la culture 24 heures avant son utilisation).

A cette inoculation les animaux réagissaient par une eschare au point d'inoculation : l'eschare se limitait très vite et toujours, et s'éliminait sans laisser de trace. La cicatrisation complète était obtenue en 25 jours.

2°) Un mois après — inoculation de 10^{-4} cc de culture virulente non formolée.

La réaction était légère, à peine esquissée.

Dix jours après cette deuxième inoculation, Harnach éprouvait ses lapins par injection de 2 cc de culture virulente sous la peau.

Les témoins mouraient en 8 jours.

Les animaux vaccinés ne présentaient qu'un peu de congestion et d'œdème au point d'inoculation.

(1) Nous ne pouvons pas ne pas faire remarquer qu'inoculé par la voie veineuse le bacille de la nécrose se localise soit dans les muscles, soit dans les articulations ; les synoviales des gaines tendineuses, les organes internes même, et exceptionnellement, pour ne pas dire jamais dans la peau.

Frappé par l'importance, la netteté des résultats obtenus par notre confrère Harnach, nous avons décidé de reprendre ses expériences au laboratoire.

Nous indiquerons d'abord notre technique. Nous avons toujours employé dans nos expériences d'immunisation des cultures de 24 heures en milieu Martin simple, obtenues en tubes scellés dans lesquels nous avons fait le vide (nous n'avons jamais employé de cultures additionnées de sulfure de calcium).

Lorsqu'il s'agissait de préparer le mélange formolé les tubes étaient ouverts, le liquide recueilli aseptiquement dans des tubes gradués où avait lieu le mélange ; celui-ci était ensuite recueilli dans un autre tube qui était scellé et mis à l'étuve pendant 24 heures.

Nous avons préparé :

2 cobayes

2 lapins

1°) Chez les cobayes l'échec fut complet : les animaux préparés réagirent à l'inoculation d'épreuve (voie sous-cutanée) exactement comme les témoins.

2°) Chez nos deux lapins les lésions obtenues lors de la première inoculation intra-dermique furent fort semblables à celles obtenues par Harnach : peut-être cependant un peu moins intenses ; nos lapins guérirent plus vite.

Lors de l'inoculation de 10¹ cc de culture virulente non formolée (10/4/28).

a) Un de nos lapins réagit d'une manière si intense

qu'il ne put subir l'inoculation d'épreuve. Il mourut d'ailleurs peu après.

b) chez le deuxième, au contraire, la réaction fut ce qu'Harnach indique pour les siens.

Lors de l'inoculation d'épreuve (17/4/28) le lapin témoin mourut en 8 jours.

Le lapin préparé présenta les symptômes suivants :

18/4. Œdème, œuf de pigeon, avec congestion et tache violette ;

21/4. Très fort œdème lie de vin — tache verte nettement délimitée et cerclée d'un halo pâle tranchant sur la coloration lie de vin d'alentour.

23/4. La lésion est nettement délimitée par un bourrelet saillant, festonné. La tache est de coloration feuille-morte.

24/4. La lésion se rétracte. La tache nécrotique est noirâtre à son niveau, la peau se plisse laissant apercevoir le bourbillon sous-jacent.

2/5. L'eschare est tombée, laissant à nu un énorme bloc de pus concrété.

5/5. Un foyer (abcès avec tache de nécrose au sommet) apparaît sur l'un des doigts des membres antérieurs gauche (l'animal s'est probablement infecté par contact).

15/5. La lésion principale (point d'inoculation) est cicatrisée.

L'animal présente peu après des signes inquiétants de la « *Maladie du nez* ».

Nous lui inoculons dans la veine, le 31/5, 1 cc de culture virulente.

Cette dose semblera forte : nous l'avons choisie telle parce que l'animal nous paraissait devoir mourir bientôt de la maladie du nez, et nous craignions, si nous lui injections une dose beaucoup plus faible, que la mort ne survint avant l'apparition des premières manifestations de la maladie de la nécrose. (En admettant, bien entendu, que cette maladie dut apparaître).

L'animal maigrit très vite.

Le 6/6, il présente une arthrite de l'articulation du grasset droit.

Le 7/6, arthrite du jarret droit.

La mort survient le 9/6.

Autopsie : hémorragie dans la plèvre, pneumonie du lobe intermédiaire droit (la mort n'est pas due à la maladie de la nécrose). Les articulations du jarret et du grasset droits renfermaient du pus contenant le bacille de la nécrose en culture pure.

De cette expérience on pouvait conclure :

1°) Que la méthode d'Harnach n'immunisait pas à coup sûr : notre animal ayant lors de l'inoculation d'épreuve présenté des lésions intenses.

2°) Qu'elle était cependant susceptible de renforcer la résistance du lapin ainsi. d'ailleurs que la méthode employée autrefois par Césari et signalée ci-dessus.

Mais il était nécessaire de se rendre compte si ce résultat était constant ou du moins s'il pouvait être facilement reproduit.

Nous avons alors préparé trois nouveaux lapins par la méthode Harnach (chez l'un d'eux quelque peu modifiée) et en même temps nous avons essayé si d'autres

méthodes ne permettaient pas d'obtenir les mêmes résultats.

Nous transcrivons très succinctement nos diverses expériences :

1°) Essais d'immunisation par les virus sensibilisés à l'état naissant (voie sous-cutanée et intraveineuse). Culture de 24 heures en milieux ainsi préparés : bouillon Martin, 9 parties ; antisérum préparé avec bacilles bovins traités par l'alcool-éther, 1 partie.

Cette méthode ne nous a pas donné de résultat digne d'être signalé.

2°) Inoculations intra-dermiques de cultures virulentes non formolées.

1° inoculation de 10^{-4} cc

2° 3 inoculations rapprochées de 10^{-4} cc

Epreuve. — 1 cc en inoculation sous-cutanée.

Cette méthode ne nous a donné que des résultats inconstants

Souvent les animaux succombaient à la première inoculation.

Chez ceux qui guérissaient la résistance était renforcée : mais à l'inoculation d'épreuve ou même à la deuxième inoculation, ils présentaient des lésions intenses qui ne guérissaient que très difficilement.

Un animal ayant supporté victorieusement les deux inoculations préparatoires et l'inoculation d'épreuve a succombé à l'injection intraveineuse de 2×10^{-1} cc de culture virulente.

3°. — 1°) Inoculation intra-dermique de bacilles traités par l'alcool-éther (bacilles bovin ou équin).

2° Inoculation intra-dermique de 2×10^{-1} cc de culture virulente.

Les deux animaux traités n'ont pas résisté à la deuxième inoculation.

4° *Méthode Harnach*. — Nous avons préparé trois animaux. L'un est mort de la maladie du nez au début de nos expériences.

Le deuxième a fait lors de l'inoculation d'épreuve un énorme foyer de nécrose qu'il n'a jamais pu cicatriser.

Il est mort 24 jours après l'inoculation d'épreuve.

Quant au troisième, nous retracerons en détail son histoire :

1°) 2/6/28. Inoculation de 2×10^{-1} de virus formolé à 5 /00 (souche A).

Réaction très discrète. Il se forme un petit abcès de la grosseur d'un pois dans l'épaisseur de la peau ; cet abcès diminue très lentement de volume et est à peu près disparu le 1/7/28.

Le 3/7/28. Il reçoit 10^{-1} de culture virulente non formolée. Il se forme au point d'inoculation une petite croûte qui disparaît très vite.

Le 11/7. Inoculation intra-dermique de 3×10^{-1} cc de culture non formolée (en trois piqûres très voisines de 10^{-1} cc). Il se forme trois petits abcès qui s'ouvrent très vite et le 16/7, il ne reste que trois ulcères à l'emporte-pièce. Le 1/8, l'animal est guéri.

Le 4/8, il reçoit sous la peau du ventre 1 cc de culture virulente (souche A en bouillon Martin additionné, cette fois, de sulfure de calcium).

Le 5/8, un peu d'œdème au point d'inoculation.

Le 6/8, l'œdème diminue.

Le 8/8, il reste seulement un noyau induré de la grosseur d'une noisette, adhérent à la tunique abdominale.

Le 24/8, le noyau a disparu.

L'animal reçoit 2 cc de culture virulente sous la peau (souche A en bouillon Martin dans le vide).

Le 25/8, œdème de la grosseur d'une noisette au point d'inoculation.

Mais, peu après, se développent dans le voisinage des noyaux durs qui arrivent à se réunir et finissent par former un énorme abcès qui s'ouvre le 11/9/28.

Peu après, nous partons en vacances. A notre rentrée, le lapin est complètement guéri.

Le 15/11/28, il reçoit 4×10^{-1} en inoculation intradermique d'une souche plus virulente (souche G) (en trois piqûres).

Il se forme trois petits abcès qui grossissent, se rapprochent pour bientôt n'en former qu'un seul. La peau tombe, le pus s'écoule : mais la lésion ne se cicatrise pas. Il reste un foyer de suppuration qui semble se creuser un nid dans les muscles sous-jacents et qui ne paraît pas devoir se cicatriser jamais.

Le 17/1/29, nous lui inoculons sous la peau du ventre 2 cc de culture virulente (souche G).

L'animal ne semble pas d'abord devoir réagir : mais vers le huitième jour, au point d'inoculation, apparaît un noyau dur qui grossit, finit par former un abcès de la grosseur du poing, abcès au niveau duquel la peau devient rouge, puis violette, enfin, noire. Une eschare

se délimite, qui se plisse laissant apercevoir le pus concrété sous-jacent.

Mais l'eschare ne s'élimine pas.

L'animal présente alors, croyons-nous, des signes inquiétants de la maladie du nez — il ne mange guère et maigrit.

Le 8/2/29, nous lui inoculons dans la veine 10^{-4} cc de culture virulente (souche G).

L'animal maigrit toujours : mais ne présente aucun symptôme qui puisse indiquer une nouvelle infection.

Il meurt le 15/2/29.

Autopsie : Abscess intéressant le maxillaire supérieur et la fosse nasale droite.

Dans cet abcès, on trouve le bacille de la nécrose en culture pure.

Les symptômes, que nous croyions être ceux de la « maladie du nez », étaient dus au bacille de la nécrose.

Conclusions

L'immunisation du lapin n'est pas résolue par la Méthode de Harnach.

L'immunité, en admettant même qu'elle soit obtenue, est tout à fait fugace.

Les rares animaux qui supportent une dose mortelle sans presque réagir, présentent, lors des inoculations ultérieures, des lésions volumineuses qui n'entraînent pas immédiatement la mort, mais qui se cicatrisent très difficilement et sont susceptibles de se généraliser.

La résistance à l'infection est incontestablement aug-

mentée : elle peut, le plus souvent, être expliquée par un certain degré d'immunité antitoxique (à noter qu'on n'observe pas *d'eschare précoce*) qui ne permet cependant pas à l'organisme de lutter efficacement contre le bacille lui-même.

La question est, à notre avis, exactement au même point où l'avait laissée M. Césari en 1923.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les conclusions des divers chapitres de cette étude ont déjà souligné les très nombreux caractères et propriétés communs au bacille des abcès du foie du bœuf et au bacille du cheval.

Nous ne les rappellerons pas ici ; nous ne rappellerons pas non plus tous les caractères divergents.

Nous en retiendrons cependant deux, qui méritent d'être mis en relief.

I. Les produits solubles sécrétés dans les milieux de culture par le bacille des abcès du foie du bœuf sont (au contraire de ce qui a lieu avec le bacille des lésions pulmonaires du cheval) très peu toxiques pour le cobaye.

Des expériences d'immunité antitoxique croisées eussent peut-être pu nous permettre de rapprocher, par leurs propriétés antipoiétiques, ces produits solubles si différents de par ailleurs par leur toxicité : mais ces expériences n'ont pu être faites.

La conclusion que nous apportons sera donc formulée sans aucun correctif : le pouvoir toxigène du bacille des lésions nécrotiques du cheval est incomparablement plus accusé que celui du bacille des abcès du foie du bœuf.

Nous tenons cependant à rappeler ici ce que nous disions en tête de cette étude : *cette conclusion ne vaut que pour le bacille des abcès du foie.*

Il est possible, probable même, que chez des sujets

atteints d'hépatite nécrasante grave, mortelle, on puisse isoler des bacilles dont la toxicité serait aussi marquée que celle des bacilles étudiés par M. Césari (bacilles toujours isolés au départ de lésions nécrotiques graves, et qui eussent entraîné la mort des animaux à brève échéance).

2° Les bacilles des abcès du foie sont agglutinés par les antisérums homologues plus fortement que par les antisérums préparés avec le bacille du cheval.

Ce fait, toujours observé avec les échantillons agglutinables n'a cependant pas la portée que l'on eût pu penser tout d'abord, par suite de l'existence de très nombreux échantillons inagglutinables par tous les antisérums (40 p. 100 d'échantillons inagglutinables).

*
* *

Le bacille des abcès du foie du bœuf, qui possède tous les caractères spécifiques du bacille de la nécrose, forme dans cette espèce un groupe remarquable par son faible pouvoir toxigène.

Il ne semble pas que l'on puisse avec lui, comme d'ailleurs avec les bacilles de la nécrose de diverses origines, conférer au lapin une immunité solide et durable dirigée contre la virulence même du microbe.

Vu : *Le Doyen*,
H. ROGER.

Vu : *Le Président*,
A. LEMIERRE.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLETY.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- I. CESARI (E). — Etudes sur le bacille de Schmorl. Expériences sur le cobaye, *Annales de l'Institut Pasteur*, t. 26, 1912, p. 802.

Etudes sur le bacille de Schmorl. Expériences sur le lapin, *Ibid.*, t. 27, 1913, p. 230.

Société de Pathologie comparée, 11 mars 1913.

Etude expérimentale de l'immunité contre le bacille de la nécrose : *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 1921, p. 80 et 1923, p. 454.

- CESARI (E.) et ALLEAUX (V.). — Etude sur le bacille de Schmorl. Rôle pathogène. Morphologie. Cultures. Biologie. Isolement. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. 26, 1912, p. 625.

- II. BANG. — Om Aarsagen til lokal Nécrose. Maanedsskrift for Dyrlaeger, t. II, 1890-91, p. 235.

Le travail de Bang écrit en danois est, de ce fait, à peu près inaccessible au lecteur français. Cependant, on en trouvera l'essentiel dans les analyses et revues de C.-O. Jensen, indiquées ci après :

a) Analyse du travail de Bang, par C.-O. Jensen, in *Centralblatt f. Bakteriologie*, t. 13, 1893, p. 201.

b) C.-O. Jensen. Die vom Nekrosebacillus hervorgerufenen Krankheiten. (Ergebnisse der Allgemeinen Pathologie, t. II, 1895, p. 122.

c) C.-O. Jensen. Die vom Nekrosebacillus hervor

gerufensen Krankheiten. (Handbuch der pathogenen Mikroorganismen — Kolle et Wassermann, vol. VI, ch. XI, p. 234).

III. Mac FADYEAN. — Disseminated necrosis of the liver of the ox and sheep. (*The Journal of comparative pathologie and Therapeutics*, 1891).

IV. NOCARD et LECLAINCHE. — Les maladies Microbiennes des animaux, 3^e édition, 1903, t. II, pp. 384 et 385.

V. SCHUMANN. — Abszesse und Nekroseherde in der Leber des Kalbes. (Inaugural Diss. Leipzig, 1908. Analysé in Jahresberichte de Ellenberger, 1908, p. 165).

VI. Voir II c ; C.-O. Jensen in Kolle et Wassermann, p. 249.

VII. BASSET (J.). — Contribution à l'étude de la maladie de Schmorl. *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 1908, p. 345.

VIII. Voir II c ; C.-O. Jensen in Kolle et Wassermann, p. 249.

IX. HARNACH (R.). — Contribution à l'étude morphologique et biologique du *Corynebacterium* de la nécrose et essai d'immunisation locale. *Revue de Pathologie comparée et d'Hygiène générale*, 5-20 fév. 1928, p. 236.

